

---

# DIAGNÓSTICO DA TALASSEMIA BETA

*Janaína Tessaro Moreira*

A talassemia beta menor, anemia genética, no laboratório de rotina é detectada como uma anemia microcíticas hipocromica que confunde-se com anemia ferropênica. O objetivo deste trabalho foi levantar a frequência desta doença em amostras de pacientes com suspeita de hemoglobinopatias. Resultados de eletroforese de hemoglobinas com hemoglobina A2 aumentadas apontaram a presença de talassemia beta menor (forma menos grave da doença) em 20 (8,3%) indivíduos entre os 240 casos analisados. Todos os portadores também apresentaram VCM e HCM reduzido e RDW aumentado.

Palavras chave: talassemia beta, anemia genética, eletroforese de hemoglobina.

## Introdução

As talassemias são doenças hereditárias que estão entre as anemias genéticas mais frequentes, com significativa prevalência em regiões que tiveram maior participação da colonização italiana e indivíduos vindos de outras localidades do Mediterrâneo. Caracterizando-se pela síntese diminuída ou ausente de globinas nas hemoglobinas humanas normais. As mais comuns são classificadas como talassemia alfa e talassemia beta<sup>1, 2</sup>.

Os indivíduos com hemoglobinas normais, ao nascerem possuem o predomínio da hemoglobina fetal (Hb F) em sua circulação sanguínea, a síntese desta começa a ser reduzida neste período. No indivíduo adulto a Hb F representa de 0-1% , predominando a hemoglobina A (Hb A), com 96-98% e hemoglobina A2 (Hb A2), com 2,5-3,5%<sup>3</sup>.

---

Artigo de conclusão do curso de pós-graduação em Hematologia e banco de sangue (julho de 2007 a julho de 2008).

A Hb A é constituída por quatro cadeias de aminoácidos, sendo duas do tipo alfa e duas do tipo beta. Em consequência do defeito na produção da cadeia  $\beta$ , que compõe o tetrâmero da molécula de hemoglobina, ocorre o desequilíbrio das concentrações de globinas alfa e beta, o que ocasiona na precipitação da globina alfa (globina que ‘sobra’) nos eritrócitos e eritroblasto, e na deficiência na síntese da hemoglobina A<sup>4</sup>. Os precipitados danificam a membrana e destroem as células ainda na medula óssea, provocando anemia.

Em ambas as talassemias a diversidade das lesões gênicas que interfere na produção das globinas, resultam em ampla heterogenicidade clínica, celular e dos resultados laboratoriais<sup>5</sup>. No Brasil as formas heterogênicas das talassemias estão em maior proporção do que as formas homocigotas ou duplo heterocigoto, como por exemplo, Hb S/ $\beta$ -talassemia e Hb C/ $\beta$ -talassemia<sup>6</sup>.

O indivíduo com heterocigose ( $\beta$ -talasêmico menor) são denominados transmissores, portadores e ou traço. Estes comumente não apresentam sintomas clínicos, mas nos exames laboratoriais específicos estão presentes os resultados característicos, hemoglobina A<sub>2</sub> e ou fetal aumentado no exame de eletroforese alcalina, como também é observado alterações morfológicas das hemácias: esquisócitos, dacriócitos, pontilhado basófilo e microcitose sempre presente<sup>4</sup>. A maioria dos indivíduos com  $\beta$ -tal. menor possuem VCM e HCM reduzidos, devido a escassez de hemoglobina normal, uma pequena parte deles são levemente anêmicos; o número de eritrócitos está acima de  $4,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ ; aumento da resistência globular osmótica em NaCl 0,36% (RO), devido a baixa de hemoglobina e leptocitose dos eritrócitos. A concentração de hemoglobina é uniforme quando observado no esfregaço<sup>5, 7</sup>. Ocorre uma desproporção entre VCM muito baixo (entre 55 e 65 fl) e a intensidade da anemia (Hb 10,5 e 13,5 g/dl), a contagem dos eritrócitos está elevada (eritrocitose).

São necessários dois genes doentes da globina  $\beta$  para produzir fenótipo clinicamente detectável, isso se deve a talassemia  $\beta$  ser uma doença autossômica

recessiva<sup>7</sup>. A união de dois portadores ( $\beta^+$ ) da doença produz a possibilidade de 25% de chance dos filhos possuírem a doença em homozigose ( $\beta^0$  ou beta talassemico maior). Este possui sintomatologia clinica, com anemia grave, aumento do fígado e do baço devido à destruição maciça das hemácias; expansão dos ossos que se deve a intensa hiperplasia da medula óssea, e também infecções por variadas causas<sup>8</sup>.

A talassemia  $\beta$  intermediaria trata-se de casos sintomáticos de anemia (Hb 7-11 g/dl), resultando em geral da combinação de defeito genético, como ocorre em casos de interação de talassemia alfa e talassemia beta. Critérios clínicos são de maior importância para diferenciar esta forma da talassemia da talassemia  $\beta$  menor<sup>9</sup>.

No diagnostico laboratorial, o individuo beta talassemico maior apresenta hipocromia e microcitose grave, com aumento de reticulócitos e de normoblasto. Na extensão sanguínea, também é observado célula em alvo e pontilhado basófilo. Enquanto que na eletroforese, a Hb A apresenta-se normal, baixa ou levemente alta, e a Hb F representa quase toda a hemoglobina do individuo<sup>8</sup>.

Entre os testes inespecíficos realizado para o diagnóstico da talassemia  $\beta^+$  esta o RO e análise morfológica das hemácias. O RO complementa no diagnóstico, mas também apresenta positividade em alguns casos de hemoglobinopatias variantes. Na análise do esfregaço a microcitose e hipocromia encontrada na tal.  $\beta^+$  pode ser observada em associações de hemoglobinopatias. A eletroforese em pH alcalino consegue identificar e qualificar hemoglobinas normais e anormais. Esta migração eletroforética apresenta boa resolução para as mutações de cadeia alfa e beta<sup>10</sup>.

A redução dos índices hematimétricos (microcitose e hipocromia) tem relevância clinica porque, além de acontecer nas formas da talassemia beta, podem ser interpretados como indicadores de deficiência de ferro e característica de anemia de doença crônica.<sup>11</sup>

O outro índice que também deve ser observado para diferenciar anemias é a distribuição de tamanho dos eritrócitos (RDW) utilizado no diagnóstico diferencial de anemias por deficiência de síntese de hemoglobinas. A anemia ferropriva é observada como tendo maior anisocitose (acima de 16%) o que pode ser explicado por momentos de suficiência transitória que geram eritrócitos maiores e mais hemoglobinizados, e de carência total que originam eritrócitos descorados, causando mistura de células normocíticas e microcíticas. Na talassemia  $\beta$  menor a produção de microcitos é homogênea com menor anisocitose, estando geralmente com o valor normal, porém, quando o paciente com tal.  $\beta$  menor está anêmico o RDW aumenta, portanto não tem grande valor diagnóstico<sup>5,7</sup>.

O presente estudo teve como objetivo levantar a frequência de talassemia beta e avaliar os resultados de exames destes indivíduos, tal como eletroforese de hemoglobina alcalina, dosagem da hemoglobina A2 comparados com índices hematimétricos (VCM, HCM e RDW) de amostras de sangue encaminhadas ao centro de referência de diagnóstico de anemias (CDA), em São José do Rio Preto, para esclarecimento das suspeitas de hemoglobinopatias.

## Casuística e Métodos

Foram analisadas 240 amostras provenientes de diversas regiões do país que são encaminhadas ao centro de diagnóstico de anemias, localizado em São José do Rio Preto. O sangue venoso foi recebido em tubos de sangue, colhido com anticoagulante.

Foram realizadas eletroforeses em pH alcalino em acetato de celulose para qualificação e quantificação de hemoglobinas normais e anormais, análise morfológica dos eritrócitos realizando esfregaço a fresco e resistência globular osmótica em cloreto de sódio 0,36% . A avaliação dos parâmetros hematológicos foi efetuada por procedimentos automatizados.

Os portadores de talassemia beta menor foram inclusos nas estatísticas através de resultados de A2 aumentado (acima de 4,0%) e ou Hb F acima de 2%. Os resultados da hemoglobina foram analisados juntamente com o esfregaço a fresco, no qual os indivíduos tinham que apresentar alterações típicas.

## Resultados

Dentre as 240 casos analisados, a talassemia  $\beta$  menor foi identificada em 20 (8,3%) das amostras, que constam na Tabela 1. Estes indivíduos apresentaram idade de 4 a 75 anos, com média de 34,5 anos.

Todos os portadores da doença mostram VCM e HCM reduzidos, estando 15 (75%) deles com HCM abaixo de 20 pg. (VR: 27-32) e 16 (80%) com VCM entre 55 e 65 fl., valor muito baixo quando comparado com os hematócritos. A maioria (95%) apresentou eritrócitos acima de  $5,0 \times 10^6/\text{mm}^3$  demonstrando eritrocitose quando comparado com o hematócrito.

Todos os portadores demonstraram anisocitose, com o RDW acima de 16% (VR: 11 a 15%), discordando das literaturas consultadas. Este índice elevado pode ser explicado pelo estado de anemia dos indivíduos, os valores de hemoglobina estavam inferiores a 12g/dl em quase todos os portadores<sup>13</sup>.

Três portadores apresentaram além da Hb A2 aumentada, Hb H sugerindo interação de alfa talassemia e beta talassemia. Nenhuma amostra apresentou hemoglobina fetal sugestivo de talassemia  $\beta$  homozigota.

Apenas um individuo com hemoglobina A2 aumentado apresentou positividade no teste de RO.

Tabela 1. Dados do eritrograma dos pacientes com alteração.									
Paciente	Idade	Eletroforese	RO	VCM	HCM	RDW	RBC	Hb	HCT
1	42	A2 aumentada	-	61	17	16	5,22	9,0	32,0
2	39	A2 aumentada	-	66	20	16	5,58	11,1	37,0
3	43	A2 aumentada	-	70	21	17	6,58	14,1	45,9
4	45	A2 aumentada	-	64	19	17	5,87	11,0	37,7
5	56	A2 aumentada	-	61	17	17	6,84	11,9	41,9
6	38	A2 aumentada	-	64	19	18	6,23	11,7	39,8
7	-	A2 aumentada	-	62	19	17	5,17	9,9	32,2
8	64	A2 aumentada	-	65	19	17	6,16	11,8	40,3
9	4	A2 aumentada	-	56	15	18	6,25	9,6	34,9
10	6	A2 aumentada	-	56	16	17	6,05	9,7	34,2
11	31	A2 aumentada	-	68	19	19	6,24	12,0	42,6
12	11	A2 aumentada	+	57	17	17	6,80	9,9	34,0
13	-	AH/A2	-	62	17	19	6,26	11,0	38,6
14	8	AH/A2	-	59	17	18	5,84	10,1	34,3
15	8	A2 aumentada	-	59	17	18	6,04	10,3	35,7
16	15	A2 aumentada	-	56	16	17	6,97	11,1	38,9
17	70	A2 aumentada	-	68	18	17	6,54	12,0	44,2
18	21	A2 aumentada	-	60	17	17	6,26	10,8	37,4
19	75	AH/A2	-	60	17	18	4,75	8,2	28,5
20	45	A2 aumentada	-	60	18	17	6,19	11,1	37,1
Valor de referência				77-92	27-32	11-15	4.0-6.1	11,3-17,8	36-54

## Conclusão

A forma heterozigota da talassemia  $\beta$  é a principal fonte de dificuldade diagnóstica em laboratórios de rotina<sup>1</sup>. Identificar a elevação de Hb A2 em maior proporção é bastante eficaz para o diagnóstico da talassemia beta, porém esta hemoglobina é reduzida pela associação com outras deficiências globínicas, deficiência de ferro e processos infecciosos. Por isso é essencial associar a dosagem de ferro ao diagnóstico.

Os índices eritrocitários possuem características evidentes para a suspeita da doença, com desproporção entre os valores, eritrócitos elevados em relação ao hematócrito e hemoglobina. Os resultados mostraram o RDW bastante inespecífico neste trabalho, estando elevado em todos os pacientes  $\beta$

talassemicos menor. Melo e outros<sup>12</sup> obtiveram resultados contraditórios que indicam o RDW elevado (acima de 16%) como melhor índice de discriminador da anemia ferropriva. .

Casos que não são elucidados nessa primeira fase, passam para uma segunda investigação que trata-se do estudo da síntese das globinas para determinar a relação das globínicas alfa e beta. É bastante utilizado para discriminar casos de ferropenia crônica da talassemia beta menor, por apresentarem idêntico quadro hematológico. Também é útil na identificação de casos de talassemia beta menor que a hemoglobina A2 apresenta-se normal. A eletroforese por isoeletrofocalização e análise de DNA são técnicas também aplicadas no diagnóstico<sup>13</sup>.

A frequência de indivíduos portadores ou com a doença da talassemia  $\beta$  encontrados neste trabalho não podem ser consideradas as da população, porque em amostras laboratoriais que não foram de levantamento populacionais, existindo maiores possibilidades da presença da doença.

## Referência

1. Leoneli G. G. Imperial R. E. Salvador D. P. M. Naoum P. C. Domingos C. R. B. Hemoglobinas anormais e dificuldade diagnóstica. rev brás hematol hemoter. 22: 396-403, 2000.
2. Orlando G. M.; Naoum P. C.; Siqueira F. A. M.; Bonni-Domingos C. R. Diagnostico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. Rev. bras. hematol. Hemoter. 22: 111-121, 2000.
3. Zamaro P. J. A.; Hidalgo C. A.; Bonini-domingos. Análise quantitativa e molecular de hemoglobina fetal em indivíduos de população brasileira. Rev. bras. hematol. Hemoter. 25: 223-229, 2003.
4. Nascimento M. L. P.; Silva L. L. O diagnostico de hemoglobinopatias e Beta/Talasseмии através de Cromatografia Liquida de Alta resolução (HPLC). Newalab. 69: 169-188, 2005.

5. Bain B. J. Células sanguíneas: Um guia prático. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 261p.
6. Bertholo L. C.; Moreira H. W. Amplificação gênica alelo-específica na caracterização das hemoglobinas S, C e D e as interações entre elas e a talassemia beta. Brás. Patol. Méd. Lab. 42: 245-251, 2006.
7. Failace R. Hemograma Manual de Interpretação. Porto Alegre: Artmed, 2003, 49p.
8. Hoffbrand A. V.; Pettit I. E.; Moss P.A.H. Fundamentos da Hematologia. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 2004, 81 p.
9. Zago M. A.; Falcão R. P.; Pasquini R. Hematologia Fundamentos e prática. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p.309-327.
10. Fernandes A. R. C. Domingos C. R. B. Metodologia laboratorial para o diagnóstico de hemoglobinas variantes. Rev brás hematol. Hemoter. 28: 65-70, 2006.
11. Wagner S. C.; Silvestre M. C.; Bittar C. M.; Friedrisck J. R.; Silla L. M. R. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev. bras. hematol. Hemoter. 27: 37-42, 2005.
12. Melo M. R.; Purini M. C.; Caçado R. D.; Kooro F.; Chattone. Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: Uma abordagem a ser adotada?. Rev. Assoc med brás. 48:222-4, 2002.
13. Naoum P. C. Domingos C. R. Moreira H. W. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Savier, 1997, 116p.